中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 50(4): 29～42 (2001)

應用多型性分子標誌進行番椒屬 (*Capsicum*) 種原種內與種間遺傳歧異度之分析[1]

范明仁[2] 王昭月[2] 羅舜芳[2] 許庭榮[2] L. M. Engle[3]

摘要：國家作物種原中心所保存的番椒屬 (*Capsicum* spp.) 主要包括 *C. annuum*、*C. baccatum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. pubescens*、*C. chacoense*、*C. praetermissum* 及 *C. eximium* 等八個〝種〞(物種)，由此八個〝種〞中選取94個品系，以RAPD分子標誌方法，進行〝種〞的鑑別及〝種〞間遺傳距離之探討。結果由580組逢機引子中篩選得17個引子具〝種〞間多型性，且再現性穩定；由RAPD產物中亦篩選得393個有效的特定片段，其中196條可用以區別上述八個〝種〞。有效條帶佔總條帶數之50%，將17個引子電泳結果合併進行以Nei和Li (1979) 所提之相似性係數爲計算基礎的UPGMA (Unweighted pair-group mean arithimetic) 集群分析 (Cluster analysis)，結果94個品系明顯依〝種〞別而呈現出集群趨勢；其中以 *C. eximium* 之〝種〞內最小距離 (Mini Distance; MD) 最小 (0.2783)，而以 *C. annuum* 之〝種〞內最小距離 (Mini Distance; MD) 之值最大則爲0.6009，以RAPD分群結果與以型態分類所得之〝種〞的分群關係及〝種間〞遺傳距離的遠近相符。再另以94個品系依據〝種〞爲基礎分成八個群，利用其多型性條帶於〝種〞間之出現頻度爲資料檔，進行折疊集群法 (Hierarchical clustering) 中之平均連結法 (Average linkage) 之集群分析，其結果亦呈現出上述以94個品系進行集群分析之結果相似；種間最小距離爲 *C. frutescens* 與 *C. chinense* 之0.747；而 *C. annuum* 與 *C. frutescens*、*C. chinense* 之距離爲0.812，均大於種內之距離。因此，綜合試驗結果顯示，利用分子層次之RAPD分子標誌所進行的集群分析結果，可與以植物性狀爲基礎所分類之〝種〞吻合；此結果亦可爲番椒品系間親緣遠近遺傳之評估及育種親本選擇之參考。

關鍵詞：番椒、逢機增殖多型性DNA、集群分析、遺傳歧異度。

前　言

番椒 (Pepper, *Capsicum* spp.) 爲茄科 (Solanaceae) 番椒屬 (*Capsicum*) 之一年或多年生作物，爲全球性之茄科三大作物，僅次於馬鈴薯和番茄。番椒原產於中美洲的墨西哥及南美洲的秘魯、玻利維亞等地區，而根據1999年FAO調查資料可知亞洲地區佔有全球番椒栽培面積的57%左右 (815,714ha)，而在產量方面亞洲亦佔一半以上（10,916,972百萬公噸）。番椒果實含有豐富的維他命C、維他命B及胡蘿蔔素等成份，可供作蔬菜食用、烹調的調味劑或藥材等多項用途，爲重要且具發展性的園藝作物[4]。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第2091號。

2. 本所作物種原室研究員兼主任、助理研究員、技術人員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

3. 亞洲蔬菜研究發展中心種子及種原保存研究室遺傳學家兼主任。臺灣省　臺南縣　善化鎮。

番椒屬的花色、果型及果色歧異度較大，且易受環境影響，故傳統植物學上種的分類結果常不一致。McLeod等人 (1983) 依據植物形態及同功異構酵素電泳分析的結果，歸納出5個馴化栽培種及20~30個野生種，其中5個馴化栽培種分別爲：*C. annuum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. baccatum* 及 *C. pubescens*[25]。國內現所蒐集及保存的番椒種原已達7,300份以上（表1），其中約有60%屬於 *C. annuum*，而 *C. chinense*、*C. frutescens* 和 *C. baccatum* 亦分別佔有5.5%、5.1%和5.0%，其他〝種〞所佔比率均甚低（包括 *C. chacoense*、*C. eximium*、*C. praetermissum*、*C. pubescens* 等）。唯 *C. annuum*、*C. chinense* 與 *C. frutescens* 等〝種〞間相似性高，不易由植株型態鑑別，爲提升育種效率，及瞭解保存種原的遺傳背景資料，故利用逢機增殖多型性DNA (randomly amplified polymorphic DNA，RAPD) 標誌進行〝種〞之鑑別，及種原遺傳歧異度之評估。

表1. 台灣保存的番椒 (*Capsicum* spp.) 種原的〝種〞別和來源地區之數量分佈狀況[z]

Table 1. The statistics of *Capsicum* collection in Taiwan by species and areas of origin[z].

Origin area	Species									Total
	C. annuum	*C. chinense*	*C. frutescens*	*C. baccatum*	*C. chacoense*	*C. pubescens*	*C. eximium*	*C. praetermissum*	others	
Asia	1,640	10	89	7	0	1	0	0	902	2,649
Europe	1,518	11	11	21	9	3	3	4	130	1,710
North America	646	46	37	31	4	4	0	0	108	876
Central America	334	42	87	12	0	9	0	0	188	672
South America	121	277	82	286	12	9	0	0	92	879
Africa	164	10	47	5	0	0	1	0	24	251
Australia	8	2	2	1	0	0	0	0	3	16
Unknown	121	5	16	6	3	2			135	288
Total	4,552	403	371	369	28	28	4	4	1,582	7,341

[z] The data of species identified were collected by AVRDC.

近年利用同功異構酵素電泳分析及分子標誌（RAPD, RFLP, AFLP等）來作爲品種鑑定的技術已逐漸普及和成熟[3]；但是早期之同功異構酵素電泳分析能提供作爲遺傳標誌的基因座數目有限，且酵素表現易受環境影響[4]，故已較少被應用於鑑別品種。近十年來，應用RAPD進行種原鑑定及其相關的研究，如作物親緣關係的研究、栽培品種鑑定和分類、基因分析和鑑定等，已廣泛應用於：水稻[25]、小麥[8]、馬鈴薯[10]、落花生[7]、苜蓿屬[11]、蘆荀[18]、可可[21,23]、油菜[26]、甜瓜[38]、芹菜[41]、木瓜[39]及薔薇科[9]等作物。

由於番椒〝種〞間的型態鑑別較爲困難，且往往需等到植株開花及結果期，才能利用園藝性狀做爲〝種〞間判別之用，極爲耗時費工；因此，近來利用生化特性探討及評估番椒之遺傳歧異度及其親緣相似度，有Tanksley (1984)[40]、Pickersgill (1988)[33]及Conicella (1990)等人[12]；利用細胞遺傳學及同功異構酵素兩種資訊之結合，做爲種原親緣及不同〝種〞間的判別。Panda等人 (1986) 則利用種子可溶性蛋白質電泳圖譜進行辣椒 (chili pepper)〝種〞間遺傳相似度之鑑別[30]。但爲求獲得更多〝種〞間及〝種〞內的判別資訊與特殊分子標誌，有Ina等人 (1993) 利用RAPD marker 進行 *C. annuum* 與 *C.* chinense〝種〞間雜交後裔中矮化因子之分析[16]；Prince 等人 (1995) 利用RFLP及RAPD之方法，分析21個源自不同地區之不同品系[35]，結果顯示 *C. annuum* 與 *C. frutescens* 遺傳相似性最高，但與 *C. baccatum* 之遺傳相似性較小；而Para等人 (1998) 以RAPD及AFLP兩個以PCR爲基礎之分子標誌方法，評估34個 *C. annuum* 栽培種之遺傳關係[31]；Lefebvre 等人 (1995; 1997) 更結合RAPD及RFLP所獲得之指紋標誌而建立 *C. annuum* 栽培種之完整染色體分子連鎖圖譜[19,20]。綜合上述顯示，不論是生化特性或分子生物層次之結果，均與先前之分類學家以開花特性及以〝種〞間雜交難易程度做爲〝種〞的

分類結果相符[22]；且因其親緣遠近關係相似，故利用分子生物技術可獲得更多的〝種〞間及〝種〞內的資訊。

雖已有多位學者利用RAPD、RFLP等分子生物技術進行番椒親緣關係之鑑別，然而大多只針對5個栽培種（*C. annuum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. baccatum*及*C. pubescens*）[16, 19, 20, 25, 30]；本研究小組過去曾以RAPD分子標誌鑑定番椒種原（王等，1996, 1997）[1, 2]，結果顯示RAPD分子標誌可應用於番椒〝種〞間之鑑別。然以往所選取之樣品數較少，且以栽培種*C. annuum*爲主，故本研究之目的乃是針對目前國內已保存的8個主要番椒〝種〞，擴大*C. annuum*外的其餘各〝種〞之樣品數，結合RAPD分子標誌和集群分析來評估其遺傳距離的遠近，以做爲種原鑑別和資料庫建立之根據。

材料與方法

一、試驗材料

本研究採用的番椒供試材料，合計包含8個〝種〞共94個〝品系〞（表2）。採用的8個〝種〞中有5個栽培種，包括*C. annuum*（甜椒品種及多數辣椒商業品種)、*C. chinense*（辣椒)、*C. frutescens*（辣椒)、*C. baccatum*（辣椒）和*C. pubescens*（辣椒）；及3個野生種，包含*C. chacoense*、*C. eximium*和*C. praetermissum*。其中，*C. annuum*有18個品系，主要來源地爲墨西哥、瓜地馬拉、薩爾瓦多和英國等；*C. chinense*有14個品系，主要來源地爲墨西哥、玻利維亞和美國等；*C. frutescens*有11個品系，主要來源地爲哥斯大黎加、衣索比亞和薩爾瓦多等；*C. baccatum*有13個品系，主要來源地爲巴西、哥斯大黎加和牙買加等；*C. pubescens*有19個品系，主要來源地爲瓜地馬拉、祕魯、厄瓜多爾和德國等；*C. chacoense*有14個品系，主要來源地爲玻利維亞、英國、美國和荷蘭等；*C. eximium*和*C. praetermissum*分別有2個品系及3個品系，均來自英國。本研究所選用的供試材料是根據目前國內保存的番椒種原中〝種〞別的重要性與來源地區的不同而逢機挑選出具代表性的94個番椒品種（系），以使試驗結果能對各地番椒種原的特性作一廣泛的瞭解。

表2. 94個番椒種原品系之原單位代碼、〝物種〞別、供試代號、搜集來源地區及品系名稱

Table 2. RAPD code, accession number, species, original region and cultivar name of 94 varieties of *Capsicum* used in study.

No.	RAPD code	Accession number	Species	Original region	Cultivar name
1.	1024ca	C01221	*C. annuum*	England	
2.	1924ca	C02090	*C. annuum*	Hungary	CSERESZNYEPAP PIKA
3.	2122ca	C02283	*C. annuum*	Mexico	CHILGAUCLE AMARILLR
4.	3767ca	C03862	*C. annuum*	Mexico	W-C 2065 DULCE
5.	3771ca	C03866	*C. annuum*	Mexico	W-C 2073 DULCE
6.	3782ca	C03877	*C. annuum*	Mexico	W-C 2154 CARIZO
7.	4826ca	C04908	*C. annuum*	Honduras	HARMONICA NA 39911
8.	4840ca	C04922	*C. annuum*	Guatemala	
9.	2313ca	C02466	*C. annuum*	Philippines	
10.	4480ca	C04563	*C. annuum*	British Virgin Islands	
11.	1595ca	C01770	*C. annuum*	Egypt	
12.	2321ca	C02474	*C. annuum*	EL Salvador	CHILE QUESILLO NUM-20 R.B.-J.E
13.	2322ca	C02475	*C. annuum*	EL Salvador	CHILE QUESILLO NUM-20 R.B.-J.E.
14.	4647ca	C04729	*C. annuum*	Ethiopia	ISCA 8730
15.	4661ca	C04743	*C. annuum*	India	
16.	4682ca	C04764	*C. annuum*	Afghanistan	ISCA K-1801
17.	4711ca	C04793	*C. annuum*	Guatemala	IGAA GUACA CHILI RED G2102

表2. 94個番椒種原品系之原單位代碼、"物種"別、供試代號、搜集來源地區及品系名稱(續)

Table 2. RAPD code, accession number, species, original region and cultivar name of 94 varieties of *Capsicum* used in study.(continued)

No.	RAPD code	Accession number	Species	Original region	Cultivar name
18.	4732ca	C04814	*C. annuum*	Guatemala	IGAA
19.	0044cb	C00044	*C. baccatum*	Costa Rica	CATIE 7201-1-3-4
20.	2275cb	C02432	*C. baccatum*		94
21.	3988cb	C04083	*C. baccatum*	Jamaica	1979
22.	4069cb	C04164	*C. baccatum*	Brazil	132 BGH 341 PIMENTA
23.	4070cb	C04165	*C. baccatum*	Brazil	134 BGH 366 PIMENTA
24.	4072cb	C04167	*C. baccatum*	Brazil	140 BGH 481 PIMENTA WILD
25.	4075cb	C04170	*C. baccatum*	Brazil	144 BGH 682 PIMENTA PITONGA
26.	4095cb	C04190	*C. baccatum*	Brazil	183 BGH 1638 WILD
27.	4096cb	C04191	*C. baccatum*	Brazil	185 BGH 1646 PIMENTA
28.	4193cb	C04279	*C. baccatum*	Brazil	IGAA MALAGUETA 209
29.	4194cb	C04280	*C. baccatum*	Brazil	IGAA MALAGUETA 210
30.	4195cb	C04281	*C. baccatum*	Brazil	IGAA MALAGUETA 212
31.	4240cb	C04326	*C. baccatum*	Brazil	IGAA HOT PEPPER NO. 1233
32.	0264cc	C00264	*C. chinense*	Peru	SCARLET LANTERN MISCUCHO
33.	0304cc	C00304	*C. chinense*	USA	ISCA 4673
34.	0755cc	C00970	*C. chinense*	England	
35.	1565cc	C01741	*C. chinense*	Netherlands	1565CC
36.	3770cc	C03865	*C. chinense*	Mexico	W-C 2068 HABANERO
37.	3775cc	C03870	*C. chinense*	Mexico	W-C-2137 HABANERO ROJO
38.	3778cc	C03873	*C. chinense*	Mexico	W-C 2147 HABANERO
39.	3784cc	C03879	*C. chinense*	Mexico	W-C 2167 HABANERO AMARILLO
40.	4353cc	C04436	*C. chinense*	Puerto rico	1774
41.	4420cc	C04503	*C. chinense*	Bolivia	IGAA PORTACHUELA 306
42.	4422cc	C04505	*C. chinense*	Bolivia	IGAA 313
43.	4465cc	C04548	*C. chinense*	Surinam	IGAA 1720
44.	4471cc	C04554	*C. chinense*	Venezuela	IGAA CHIREL 1496
45.	4619cc	C04701	*C. chinense*	Brazil	BGH 1725
46.	0971cco	C00572	*C. chacoense*	Netherlands	
47.	4304cco	C00572-1	*C. chacoense*	Argentina	IGAA 189
48.	0631cco	C00849	*C. chacoense*	USA	
49.	0961cco	C01174	*C. chacoense*	France	
50.	1107cco	C01304	*C. chacoense*	England	
51.	1367cco	C01554	*C. chacoense*	England	
52.	1368cco	C01555	*C. chacoense*	England	
53.	1550cco	C01728	*C. chacoense*	USA	
54.	1560cco	C01737	*C. chacoense*	Netherlands	
55.	4305cco	C04390	*C. chacoense*	Bolivia	COL No. 275 ARIVIVI
56.	4306cco	C04391	*C chacoense*	Bolivia	IGAA ARIVIVI 277
57.	4307cco	C04392	*C. chacoense*	Bolivia	IGAA 340
58.	4310cco	C04395	*C. chacoense*	Bolivia	ARIVIVI 348
59.	4315cco	C04400	*C. chacoense*	Bolivia	
60.	0736ce	C00951	*C. eximium*	England	

表2. 94個番椒種原品系之原單位代碼、"物種"別、供試代號、搜集來源地區及品系名稱(續)

Table 2. RAPD code, accession number, species, original region and cultivar name of 94 varieties of *Capsicum* used in study.(continued)

No.	RAPD code	Accession number	Species	Original region	Cultivar name
61.	1137ce	C01331	*C. eximium*	England	
62.	1110cf	C01307	*C. frutescens*	England	
63.	1173cf	C01367	*C. frutescens*	Costa Rica	CHILE PICANTE 343
64.	1528cf	C01706	*C. frutescens*	EL Salvador	
65.	2352cf	C02505	*C. frutescens*	Costa Rica	R.O.
66.	4655cf	C04737	*C. frutescens*	Ethiopia	ISCA 10192
67.	4678cf	C04760	*C. frutescens*	Ecuador	1285
68.	4715cf	C04797	*C. frutescens*	Ethiopia	IGAA 1881
69.	4722cf	C04804	*C. frutescens*	Mexico	1249
70.	4761cf	C04843	*C. frutescens*	Costa Rica	
71.	4765cf	C04847	*C. frutescens*	Costa Rica	
72.	4457cf	C04540	*C. frutescens*	Mariana	965
73.	1135cpr	C01329	*C. praetermissum*	England	
74.	1136cpr	C01330	*C. praetermissum*	England	
75.	1198cpr	C01391	*C. praetermissum*	England	
76.	0555cp	C00778	*C. pubescens*	Guatemala	
77.	0632cp	C00850	*C. pubescens*	USA	
78.	0737cp	C00952	*C. pubescens*	Germany	
79.	1111cp	C01308	*C. pubescens*	Peru	
80.	1127cp	C01322	*C. pubescens*	Guatemala	
81.	1128cp	C01323	*C. pubescens*	Guatemala	
82.	1129cp	C01324	*C. pubescens*	Guatemala	
83.	1181cp	C01374	*C. pubescens*	Peru	
84.	1246cp	C01439	*C. pubescens*	Peru	
85.	1268cp	C01461	*C. pubescens*		
86.	1385cp	C01572	*C. pubescens*	Guatemala	
87.	1414cp	C01599	*C. pubescens*	Peru	
88.	1425cp	C01608	*C. pubescens*	Germany	
89.	1561cp	C01738	*C. pubescens*	Netherlands	
90.	4813cp	C04895	*C. pubescens*	Ecuador	AJI 80025 SAM 2657
91.	4814cp	C04896	*C. pubescens*	Ecuador	AJIROCOTO SAM 2567
92.	4815cp	C04897	*C. pubescens*	Ecuador	AJIROCOTO SAM 2568
93.	4825cp	C04907	*C. pubescens*	Bolivia	W-931 LOCATO
94.	5430cp	C05500	*C. pubescens*	Indonesia	

二、試驗方法

(一) 供試樣品的RAPD分析

1. DNA萃取

DNA之萃取方法主要參考Rogers 等人 (1994)[36]所提之方法。取植株嫩葉0.5公克放入1.5 ml已滅菌的小離心管，加入液態氮磨碎，加入500μl的DNA萃取緩衝液 (100 mM Tris-HCl, pH 8.0; 20 mM EDTA; 1.4 mM NaCl; 0.2% β-mercaptoethenol, v/v)，於60℃水浴30分鐘，輕輕混勻後加入500μl

chloroform/ isoamyl alcohol (24:1 ,v/v) 再輕輕混勻。以10℃，16,000g離心10分鐘 (SIGMA 2K15, rotor 12145)。取上清液加入300μl之冰冷isopropanol沈澱DNA。再於4℃，16,000 g離心10分鐘。沉澱之DNA，再加入1 ml的washing buffer (75% ethanol, v/v) 輕輕混勻後，於4℃下以16,000g離心10分鐘。留取DNA沉澱物乾燥後溶於50μl的無菌水再加入RNase (10μg/ml) 在37℃下反應30分鐘。將DNA溶液，稀釋並測定OD_{260} nm之讀値，及計算DNA含量濃度。

2. 聚合酵素連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 與電泳

將萃取得之genomic DNA先稀釋作爲模板DNA (template DNA)，利用10個核苷酸序列的隨意引子580種（UBC RAPD primer set: 100/4及100/5 200種；Operon Kit：OPAO、OPAP、OPAQ、OPAR、OPAS、OPB、OPD、OPE、OPF、OPG、OPJ、OPK、OPO、OPP、OPQ、OPR、OPW、OPX及OPY 380種），並由八個〝種〞內挑選30個較具代表性之樣品，進行聚合酵素連鎖反應以篩選合適之primer，再將篩選出具有〝種〞間明顯多型性DNA片段之引子，進行整體94個樣品之聚合酵素連鎖反應，並自反應產物中篩檢出〝種〞鑑別專有之marker band。反應液參考Oard及 Dronavalli (1992)[29]，反應總體積爲25μl，內含1 U Taq polymerase (Promega)、1 × PCR buffer (50 mM KCl; 10 mM Tris-HCl, pH 9.0; 0.1% Triton 100)、2.5 mM $MgCl_2$、200 μM dNTP、0.2 μM primer及25 ng template DNA。聚合酵素連鎖反應儀器爲Perkin Elmer Cetus Thermal Cycler 9600，反應溫度條件設定如下：1次 (cycle)：94℃，3分鐘→42℃，1分鐘→72℃，1分鐘；44次 (cycles)：94℃，1分鐘→42℃，1分鐘→72℃，2分鐘。反應完成時自動保存在4℃。經聚合酵素連鎖反應而增殖之DNA，以2% 的 agarose 在TAE buffer (40 mM Tris acetate, pH 8.0；1 mM EDTA) 中進行DNA電泳。並以Boeheringer Mannheim公司之DNA molecular weight marker XVI (250 bp ladder) 做爲分子量標誌，電泳槽係採用Cosmo公司的Mupid-2，電壓設定100伏特，結束後置於0.5 mg/ml的ethidium bromide中染色，以UV光檢視agarose膠體上DNA多型性片段，並照相及貯存影像於IS 2000 Digital Imaging System (Alpha Innotech Corporation) 進行分析。

(二) 供試樣品的集群分析

將儲存之RAPD分析影像經影像分析軟體 (GelCompar™, Applied Meth BVBA) 求得數位化之數據，再以1995年Mumm等[27]換算相異距離矩陣 (Dissimilarity Matrix) 的方法，採用Nei和Li (1979)[28]的公式 $[2N_{AB}/(N_A+N_B)]$；N_{AB}：A樣品及B樣品相同之條帶數，N_A：A樣品條帶總數，N_B：B樣品條帶總數]爲基礎所設計的PC-SAS電腦程式計算出歐氏距離矩陣 (Matrix for Euclidean Distance)。最後，採用摺疊集群法 (Hierarchical Clustering) 中的平均連結法 (Average Linkage) 來進行集群分析(Cluster Analysis)，並依據標準化的最小群間距離 (Mini Distance; MD) 來建立其樹狀圖[6]。

(三) 〝種〞間的集群分析

根據94個番椒品系的集群分析樹狀圖所顯示之趨勢結果，進而以8個〝種〞爲基礎進行集群分析，包含*C. annuum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. chacoense*、*C. praetermissum*、*C. pubescens*、*C. baccatum*及*C. eximium*等八集群。首先，亦採用RAPD分析後數據化的原始資料（0或1）計算出8個集群內所包含的全部品系多型性條帶之出現之一致性頻度 $(U)= (1/N)\sum_{i=1}^{n} V_i$ [9]。其次，以換算後8個集群間的多型性條帶出現頻度爲資料檔進行採用摺疊集群法中的平均連結法之集群方析[6]，並建立其樹狀圖做爲評估番椒〝種〞間遺傳背景遠近的根據。

結果與討論

一、番椒種原之蒐集數量和來源的分佈狀況

目前國內所蒐集和保存的番椒種原已達7,341份，其中以四個馴化栽培種的數量較多，分別爲*C.*

*annuum*的4,552份、*C. chinense*的403份、*C. frutescens*的371份以及*C. baccatum*的369份。*C. annuum*佔多數，而*C. chinense*、*C. frutescens*和*C. baccatum*次之。統計種原來源資料可知以亞洲和歐洲佔有較大的比例（表一），這也正和1999年FAO所調查的資料內容相符合。綜合國內外資料顯示番椒是目前亞洲地區相當重要的蔬菜作物，故爲提升番椒育種選拔效率，必須在選拔時對親本材料的親緣關係背景有更深入的了解，故本研究採用結合分子生物技術與多變數分析來做爲評估番椒屬內各〝種〞間與〝種〞內的品種（系）間之親緣關係遠近。

二、94個番椒品系之RAPD分析

本試驗以UBC primer set 200條random primer (UBC primer set：100/4及100/5共200條)，及Operon kit 380條random primers（Operon kit：OPAO、OPAP、OPAQ、OPAR、OPAS 、OPB、OPD、OPE、OPF、OPG、OPJ、OPK、OPO、OPP、OPQ、OPR、OPW、OPX、OPY）共580組逢機引子；篩選得17個引子具〝種〞間明顯多型性，且再現性穩定（OPB5、OPB6、OPB12、OPE14、OPE15、OPG13、OPG16、OPK12、OPO10、OPQ16、OPQ18、OPQ20、OPR2、OPR8、OPR13、OPX2及UBC457）；比率數爲2.9％。由此17個引子之RAPD產物共獲得393個有效條帶，平均每個引子產生23.5個條帶，其分子量大小介於253bp至2,741bp之間；其中196個條帶爲〝種〞間多型性條帶，佔多型性條帶之百分率爲50％，較1998年Paran等人以RAPD方法鑑別栽培種*C. annuum*獲得22％之多型性條帶數爲高[31]，因此，本試驗所選取之多型性引子，具有較高之多型性表現，且以此RAPD分子標誌方法確實可應用於〝種〞間之種原鑑定。

三、94個番椒品系之集群分析

依據番椒94個品系，綜合17個引子所產生之393個多型性條帶，以Nei和Li[28]的相似性係數爲基礎，計算歐氏距離矩陣所獲得之RAPD集群分析樹狀圖（圖1），根據樹狀圖所呈現的最小群間距離遠近，來判斷94個番椒品系在8個〝種〞間所表現的遺傳背景程度與原先各品系在8個〝種〞間的歸屬分類資料是否符合（表2）。樹狀圖顯示*C. annuum*的18個品系均有聚集起來，且群內距離不大於0.601；*C. chinense*的14個品系亦聚集在一起，且群內距離不大於0.5766；*C. frutescens*的11個品系亦聚集在一起，且群內距離不大於0.585；*C. baccatum*的13個品系當群內距離小於0.645時；*C. chacoense*的14個品系當群內距離小於0.592時；*C. praetermissum*的3個品系當群內距離小於0.393時和*C. eximium*的2個品系當群內距離小於0.278時均有聚集起來的趨勢；*C. pubescens*則19個品系當群內距離小於0.552時全部亦有依〝種〞別而聚集起來的趨勢。將17個引子合併進行94個品系的集群分析，全部94個品系均會明顯依不同〝種〞別而呈現出集群趨勢，依本研究小組之結果可以瞭解，番椒種原〝種〞間之鑑定亦可以RAPD之結果來判別且可信度相當高。除了*C. praetermissum*及*C. eximium*種內歧異度估值有偏低之趨勢（分別爲0.393及0.278）外，其他六個種之種內歧異度介於0.65至0.55之間，此數值可爲台灣番椒種原內遺傳歧異度之估值；同時，亦可表現出所蒐集番椒種原之種內變異性相當一致，意即在台灣所有之番椒屬種原材料內，各〝種〞內材料之遺傳變異性大致相同，並未有特殊集中於某些〝種〞。各〝種〞之種原份數以*C. annuum*佔62％以上，但本試驗所得結果*C. annuum*〝種〞內歧異度並未大幅增加，此點給予了種原保存是否應考慮到〝核心收集 (core collection)〞之方向有若干啓示，此點將爲日後種原中心研究方向之一。

此外，由於*C. annuum*、*C. frutescens*和*C. chinense*是目前世界各地主要栽培的番椒，根據1966年Lippert[22]等人所提出番椒屬主要〝種〞間的交配和合性網狀關係圖，認爲*C. annuum*、*C. frutescens*和*C. chinense*三個〝種〞間確有可能會因天然授粉的發生，而使後代彼此具有較近的親緣關係。即*C. annuum*、*C. chinense*和*C. frutescens*等三〝種〞或因演化過程中其起始祖先相近，或演化的歷程中因可行基因互換故親緣關係較爲密切，經由種間的天然雜交，其基因組應有部分的置換，使得育種人員不易由植株外觀來辨認此三個種。本研究中番椒94個品系的RAPD集群分析樹狀圖中顯示，*C.*

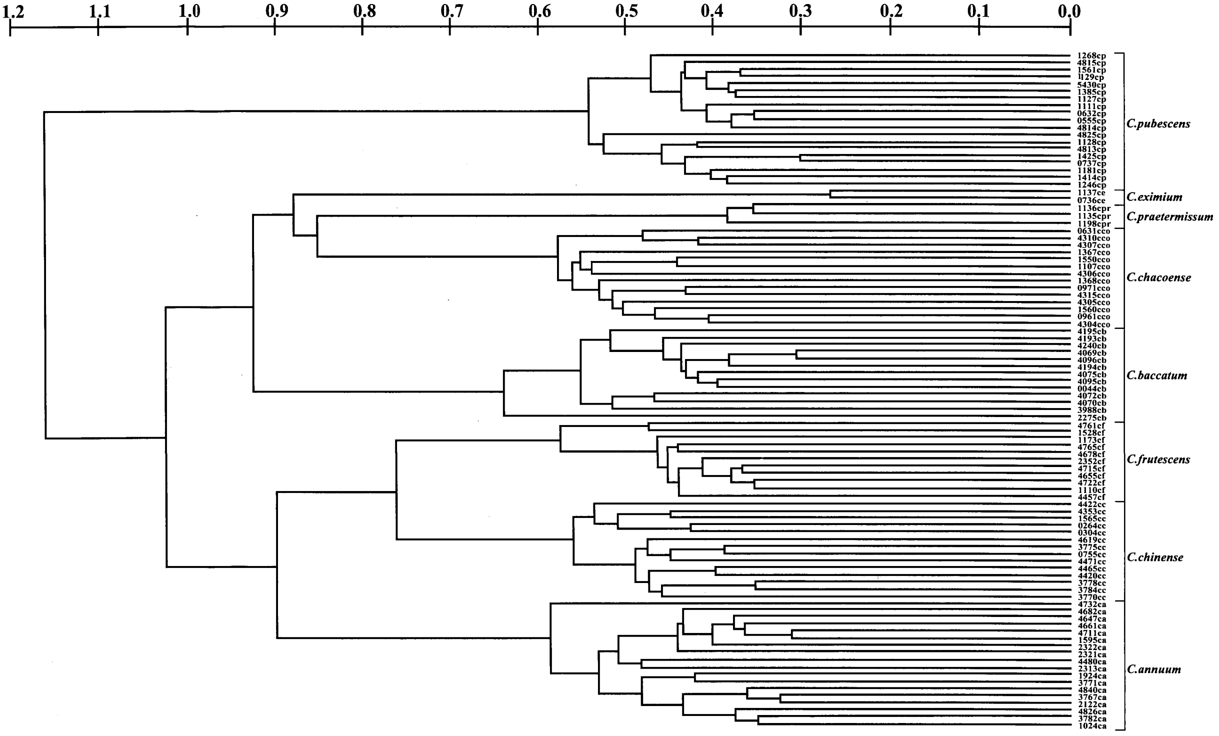

圖1. 番椒94個品系綜合十七個引子以Nei和Li相似性係數計算之歐氏距離爲基礎所構築之RAPD集群分析樹狀圖

Fig. 1. RAPD denrogram of 94 varieties of *Capsicum* by 17 primers and constructed by UPGMA cluster analysis based on Euclidean distances of Nei's and Li's Cofficient.

*annuum*的18個品系、*C. frutescens*的11個品系與*C. chinense*的14個品系均是相當緊密地聚集起來，並且依不同〝種〞別而表現出集中趨勢，且依RAPD之結果各〝種〞皆有其專一之標誌條帶，可作爲此三〝種〞間分類之參考。

四、8個番椒“種”的集群分析

按番椒屬內由於花色、果型、果色之分歧很大，故早期分類很紊亂。依DeWitt等人 (1993)(13)之文內指出1852年Dunal主張屬內應有50個〝種〞，Irish (1898) 則將番椒屬分爲多年生之*C. frutenscens*與一年生之*C. annuum*兩個種；而Bailey (1923) 認爲*C. annuum*也可多年生長，因此，將番椒屬歸爲只有1個〝種〞。目前較廣爲接受的分類方法，爲1957年Smith及Heiser等人(37)提出番椒屬有5個馴化栽培種，與1983年Esbaugh(14)根據阿根廷之植物學家Armando Hunziker之研究將番椒屬之野生種歸納爲22個種；其中番椒屬5個馴化栽培種即：*C. annuum* L.（包含全部甜椒品種及大部分辣椒商業栽培種），*C. frutenscens* L.、*C. chinense* Jacqin、*C. baccatum* L.和*C. pubescens* Ruiz & Pavon。其中除*C. pubescens*有黑色種子，最易於與其他黃色種子之番椒屬種原分辨。而上述相近之四個種中，僅*C. baccatum*的花冠基部有散漫黃斑較易辨認外，其餘*C. annuum*、*C. frutenscens*、*C. chinense*三者之間或同種內之種子、植株性狀均相似而不易分辨，僅能種植至開花結果期，再以花器特性區分之。在花序特性上*C. annuum*花朵多單生，而*C. chinense*及*C. frutescens*則每節花朵多2枚以上；另外*C.* frutescens花梗直立，而*C. chinense*及*C. annuum*則花梗下垂。除*C. frutescens*萼緣無齒突外，*C.*

表3. 番椒屬栽培種之類型特徵

Table 3. Characteristics of domesticated species of *Capsicum*

Species	Type	Corolla color			Corolla sport		Anther color			Calyx margin		Annular constriction at junction of calyx		Seed color			Number of pedicel/axil	
		Purple	White	Light-green	Yes	No	Purple	Blue	Yellow	Yes	No	Yes	No	Black	yellow	straw	Single	Multiple
C. annuum	1	*				*		*		*			*		*		*	
	2		*			*		*		*			*		*			*
	3	*				*	*			*			*		*		*	
C. baccatum			*		*				*	*			*		*		*	
C. chinense	1	*				*	*			*		*			*			*
	2		*			*		*		*		*			*			*
	3			*		*		*		*		*			*			*
	4			*		*		*		*		*			*		*	
	5			*		*		*		*			*		*			*
C. frustescens	1			*		*		*			*		*		*		*	
	2			*		*		*			*		*		*			*
C.pubescens		*				*	*			*			*	*				*

References: Greenleaf (1986) and IBPGR (1983) (張,1988)。

*annuum*種內均有齒突。萼基上除部分*C. chinense*外，均無環縮（表3）[5]。但基本上以型態作爲〝種〞之鑑定，常有混淆及困難之處，利用分子生物技術，探討種間之遺傳及演進關係。

番椒94個品系，依〝種〞別區分成8個集群後，再根據綜合17個引子以393個條帶於各〝種〞內所有品系之出現頻率爲基礎，所構築之RAPD集群分析樹狀圖示如圖2，*C. frutescens*與*C. chinense*其種間距離0.747爲最近，加入*C. annuum*之後，三個種間之距離爲0.812較其他種爲小，顯示*C. annuum*、*C. chinense*和*C. frutescens*等三〝種〞是較爲接近之族群。此點符合Pickersgill等人 (1979; 1988)[32, 33]所認爲該三〝物種〞是由同一祖先基因群所產生，且依其花色、花萼及每節花朵數等之園藝性狀亦顯示此三個〝種〞較爲接近；且McLeod等人(1979)[24]及Jensen等人 (1979)[17]以同功異構酵素鑑定之結果亦與上述之結果相同。根據1966年Lippert[22]等人認爲*C. annuum*和*C. chinense*間可雙向天然部分授粉，在*C. annuum*和*C. frutescens*間是則單向天然部分授粉，而在*C. chinense*和*C. frutescens*間亦是雙向天然部分授粉，除顯示*C. annuum*、*C. frutescens*和*C. chinense*三個〝種〞間確有可能會因天然授粉的發生，而使後代彼此具有較近的親緣關係；亦顯現*C. frutescens*和*C. chinense*二個〝種〞間之群間距離爲最小 (0.747)。*C. baccatum*和*C. chacoense*二〝種〞群間之距離爲0.864，而*C. baccatum*和*C. chacoense*則距離上述三〝種〞較遠(群間相對距離爲0.921)，這正和Lippert等人 (1966年)[22]提出番椒屬主要〝種〞間的交配和合性網狀關係圖中*C. baccatum*和*C. chacoense*剛好位在*C. annuum*、*C. frutescens*和*C. chinense*三個〝種〞的周圍位置相呼應。1966年Lippert[22]等人以植物性狀進行分類時*C. baccatum*雖與*C. annuum*、*C. frutescens*及*C. chinense*三個〝種〞之距離較遠；而Pickersgill (1991)[34]及IBPGR (1983)[15]所提之番椒屬〝種〞間之交配和合性關係中顯示*C. annuum*、*C. frutescens*、*C. chinense*、*C. baccatum*和*C. chacoense*等五個種彼此間可雜交而產生正常且可存活之F_1植株，而Jensen等人 (1979)[17]認爲*C. baccatum*應與*C. chacoense*等距，除此之外，Panda等人 (1986)[30]以種子蛋白圖譜之分析結果進行集群分析亦顯示*C. annuum* var 'glabriusculum' 介於野生與栽培種之*C. baccatum*之間，1979年Pickersgill[32]亦指出野生種之*C. annuum*花冠上亦有黃色之斑點，此爲*C. baccatum*之特有性狀，顯示野生種之*C. annuum*及野生種與栽培種之*C. baccatum*可能爲在不同地區產生共同演化，且某個野

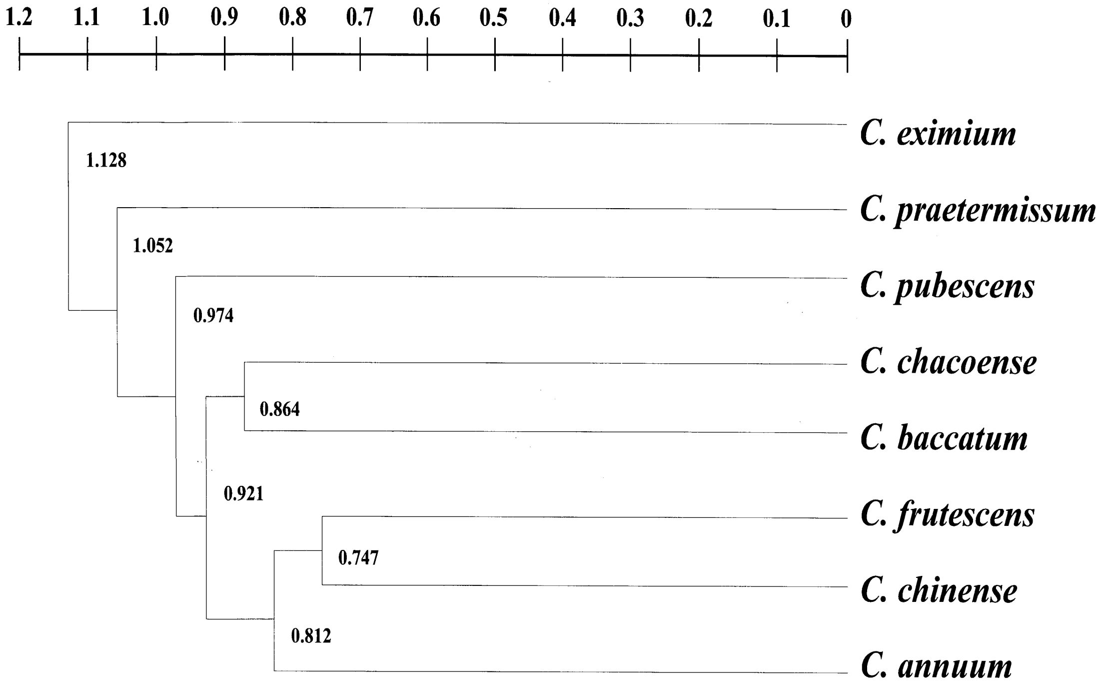

圖2. 番椒94個品系依種別分成八群後，綜合十七個引子以多型性條帶於〝種〞內出現之頻率爲基礎所構築之RAPD集群分析樹狀圖

Fig. 2. Dendrographic relationships among phenotypically unique RAPD patterns of 8 species of *Capsicum*. 94 isolates and 17 primers were used. The top scale is the percentage of similarity by Nei's similarity coefficient.

生種之*C. annuum*可能爲*C. baccatum*之祖先；而由其試驗結果亦顯示野生種之*C. baccatum*及*C. annuum*爲較接近之族群，可能因此，本試驗結果*C. baccatum*及*C. chacoense*二個〝種〞與*C. annuum*、*C. frutescens*及*C. chinense*等三個〝種〞共同聚集於一個較接近之集群中。

與上述五個種距離位置較遠的*C. pubescens*雖與*C. baccatum*、*C. annuum*、*C. frutescens*及*C. chinense*同屬於馴化栽培種，但可能因其具紫色花冠及黑色種子等較特殊之園藝性狀，加上與其他四個馴化栽培種間無法雜交產生可孕性種子，造成其遺傳物質型態與其他種分離，因此，*C. pubescens*與*C. chacoens*、*C. annuum*、*C. frutescens*、*C. chinense*及*C. baccatum*所形成之集群距離較遠(0.974)。*C. praetermissum*和*C. eximium*在型態上本屬於野生型，經分子生物技術RAPD之結果亦發現此二族群之遺傳物質，明顯的與其他族群遠離（其遺傳距離分別爲1.052及1.028），而且亦與*C. chacoens*、*C. annuum*、*C. frutescens*、*C. chinense*及*C. baccatum*等五個族群間無法交配產生可孕性種子之結果相符。此外，在以各〝種〞內所有品系出現頻度爲基礎所構築的RAPD集群分析樹狀圖（圖2），亦可以顯示*C. annuum*、*C. chinense*、*C. frutescens*、*C. baccatum*與*C. chacoense*五種符合上述94個品系之RAPD集群分析樹狀圖（圖1）；但原來距離位置最遠的*C. pubescens*卻變成較爲接近*C. baccatum*與*C. chacoense*集群組合的〝種〞別(圖1)，這可能與*C. eximium*和*C. praetermissum*所選用的供試材料分別只有2個和3個，且RAPD集群分析樹狀圖是以不同的分析基礎爲背景資料（各〝種〞內所有品系的出現頻度與以Nei和Li (1979)(9)的相似性係數爲基礎所計算的歐氏距離矩陣）來進行集群分析產生的部分偏差有明顯的關係。但是，這結果與Lippert等人 (1966年)[22]提出番椒屬主要”種”間

的分類檢索表中 *C. eximium* 與 *C. annuum*、*C. frutescens* 和 *C. chinense* 三個〝種〞的親緣關係最遠亦剛好吻合。此外，根據8個〝種〞的集群分析樹狀圖中最小群間距離的遠近程度可看出 *C. chinense* 和 *C. frutescens* 之群間距離爲最小 (0.747)，遠較上述94個品系之最大種內歧異度爲 *C. annuum* (0.6009) 大，再次顯示本試驗所篩選之多型性引子，可以明確的應用作爲番椒之〝種〞間鑑別外，亦可呈現〝種〞內及〝種〞間之遺傳距離，可應用於種原相似性估測或品系間遺傳歧異度之探討。

進行品種間雜交，親本的選擇是決定育種工作成敗的關鍵，親本遺傳差異的大小，直接影響到雜種一代優勢的大小和以後分離世代中性狀變異幅度的大小。選擇遺傳差異較大的雙親進行雜交，是希望獲得強優勢雜種和分離世代中更多選拔的機會。然而，種間若遺傳差異太大則可能適得其反，不僅可孕性低且後代多爲不良性狀。故瞭解遺傳差異並適當的選擇是育種上重要的資訊。

由本研究之群集分析結果與植物性狀比對發現，種間的群集遠近與植物性狀之分類明顯具有吻合之處。故綜合言之，結合分生層次的RAPD分子標誌與多變數分析的集群分析，可與番椒以植物性狀爲基礎所分類之〝種〞吻合；此外，本研究在應用的層面上，除了可以幫助植物育種人員辨別番椒〝種〞間混淆的差異外，亦可由RAPD集群分析樹狀圖中供試番椒材料親緣關係的遠近來預先選拔出適合育種目的之親本材料，以避免育種親本因親緣關係較遠而無法達成雜交育種之目的，作爲選育種人員利用種原材料之參考。

誌　謝

本計畫承蒙農委會經費補助（86-科技-1.5-糧-06；87-生技-2.1-糧-02；88-生技-2.1-糧-02），特此致謝。

引用文獻

1. 王昭月、范明仁、羅舜芳、劉新裕。1996。以逢機增殖多型性DNA分子標誌鑑別番椒屬野生馴化種原。中華農業研究45(4): 370-381。
2. 王昭月、范明仁、羅舜芳。1997。利用RAPD分子標誌估測番椒屬種原歧異性之研究。中華農業研究46(4): 314-323。
3. 徐國彰、張武男、林伯耀。1997。結球白菜種原鑑定及品種純度分析之研究。園藝種苗科技研發成果發表會專集。144-145頁。種苗改良繁殖場編印。
4. 張連宗。1988。番椒品種改良。蔬菜品種改良研討會專集。145-172頁。
5. 張武男。1995。台灣農家要覽。農作篇(二)。番椒。437-440頁。豐年社。台北。台灣。
6. 沈明來。1998。實用多變數分析，第九章：集群分析。381-418頁。九州圖書文物有限公司。台北。台灣。
7. 范明仁、羅舜芳、王昭月、許庭榮、曹文隆、楊金興、鄭耀星。1999。台灣落花生種原親緣關係之研究，II.應用RAPD進行落花生種原親緣關係之研究。中華農業研究48(2): 67-85。
8. Asakura, N., C. Nakamura, and I. Ohtsuka. 1997. RAPD markers linked to the nuclear gene from *Triticum timopheevii* that confers compatibility with *Aegilops aguarrosa* cytoplasm on alloplasmic durum wheat. Genome 40: 201-210.
9. Bartish, I.V., K. Rumpunen, and H. Nybom. 1999. Genetic diversity in *Chaenomells* (*Rosaceae*) revealed by RAPD analysis. Plant Syst. Evol. 214: 131-145.
10. Blok, V.C., M.S. Philips, and B.E. Harrower. 1997. Comparison of British population potato *cyst* nematodes with populations from continental Europe and South America using RAPDs. Genome 40: 286-293.
11. Brummer, E. C., J. H. Bouton, and G. Kochert. 1995. Analysis of annual *Medicago* species using RAPD markers. Genome 38: 362-367.
12. Conicella, C., A. Errico, and F. Saccardo. 1990. Cytogenetic and isozyme studies of wild and cultivated *Capsicum annuum*. Genome 33: 279-282.
13. DeWitt, D., and P. W. Bosland. 1993. The pepper garden. pp. 5-7. Ten Speed Press. CA. USA.
14. Esbaugh, W. H. 1983. Genetic Resources of *Capsicum*. International Board for Plant Genetic Resources. Rome.

15. IBPGR. 1983. Genetic Resources of *Capsicum* — a global plan of action. International Board for Plant Genetic Resources, Rome.

16. Inai, S., K. Ishikawa, O. Nunomura, and H. Ikehashi. 1993. Genetic analysis of stunted growth by nuclear-cytoplasmic interspecific hybrids of *Capsicum* by using RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 87: 416-422.

17. Jensen, R. J., M. J. McLeod, W. H. Eshbaugh, and S. J. Guttman. 1979. Numerical taxonomic analysis of allozymic variation in *Capsicum* (Solanaceae). Taxon 28: 315-327.

18. Jian, C., and K.C. Sink. 1997. RAPD and SCAR markers linked to the sex expression locus M in asparagus. Euphytica 94: 329-333.

19. Lefebvre, V., A. Palloix, C. Caranta, and E. Pochard. 1995. Construction of an intraspecific intergrated linkage map of pepper using molecular markers and doubled haploid progenies. Genome 38: 112-121.

20. Lefebvre, V., C. Caranta, S. Pflieger, B. Moury, A-M. Daubeze, A. Blattes, C. Ferriere, T. Phaly, G. Nemouchi, A. Ruffinatte, and A. Palloix. 1997. Updated intraspecific maps of pepper. Capsicum and Eggplant Newsletter 16: 35-41.

21. Lerceteau, E., T. Robert, V. Petiard, and D. Crouzillat. 1997. Evaluation of the extent of genetic variability among *Theobroma cacao* accessions using RAPD and RFLP markers. Theor. Appl. Genet. 95: 10-19.

22. Lippert, L. F., P. G. Smith, and B. O. Berg. 1966. Cytogenetics of the vegatable crops. Garden pepper, *Capsicum* sp. Bot. Rev. 32: 24-55.

23. Marita, Jane M., Jose Luis Pires, W. Martin Aitken, and James Nienhuis. 1997. Development and utilization of a core collection in *Theobroma cacao* based on RAPD marker-based estimates of genetic distance. HortScience 32(3): 513.

24. McLeod, M. J., W. H. Eshbaugh, and S. I. Guttman.1979. A preliminary biochemical systematic study on the genus *Capsicum*-Solanaceae. In: Hawkes J. G, R. N. Lester, A. D. Skelding (eds.). The Biology and Taxonomy of the Solanaceae. Academic Press, New York, pp. 701-713.

25. McLeod, M. J., S. I. Guttman, and W. H. Eshbaugh. 1983. Peppers. pp:189-202. in: Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part B. S.D. Tanksley and J. J. Orton (eds). Elsvier, Amsterdam.

26. Mikkelsen, T. R., J. Jensen, and R. B. Jorgensen. 1996. Inheritance of oilseed rape (*Brassica napus*) RAPD markers in backcross progency with *Brassica campestris*. Theor. Appl. Genet. 92: 492-497.

27. Mumm, R.H., and J. W. Dudley. 1995. A PC-SAS computer program to generate a dissimilarity matrix for cluster analysis. Crop Sci. 35: 925-927.

28. Nei, M., and W. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc.Natl. Acad. Sci. USA 76: 5269-5273.

29. Oard, J. H., and S. Dronavalli. 1992. Rapid isolation of rice and maize DNA for analysis by random primer PCR. Plant Mol. Bio. Rep. 10: 236-241.

30. Panda, R. C., K. O. Aniel, and R. K. G. Raja. 1986. The use of seed protein electrophoresis in the study of phylogenetic relationship in chili pepper (*Capsicum* spp.). Theor. Appl. Genet. 72: 665-670.

31. Paran, I., E. Aftergoot, and C. Shifriss. 1998. Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. Euphytica 99: 167-173.

32. Pickersgill, B., C. B. Heiser, and J. McNeill. 1979. Numerical taxonomic studies on variation and domestication in some species of *Capsicum*. In: Hawkes J. G, R. N. Lester, A. D. Skelding (eds.). The Biology and Taxonomy of the Solanaceae. Academic Press, New York, pp. 679-700.

33. Pickersgill, B. 1988. The genus *Capsicum*: a multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. Biol. Zentralbl. 107: 381-389.

34. Pickersgill, B. 1991. Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. In: Tsuchiya, T. and D. K. Gupta (eds.). Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution Elsevier pp. 139-160.

35. Prince, J. P., V. K. Lanckney, C. Angeles, J. R. Blauth, and M. M. Kyle. 1995. A survey of DNA polymorphism within the genus *Capsicum* and the fingerprinting of pepper cultivars. Genome 38: 224-231.

36. Rogers, S. O., and A. J. Bendich.1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. in: Plant Molecular Biology Manual. D1: 1-8. Kluwer Academic Publishers.

37. Smith, P. G., and C. B. Heiser. 1957. Taxonomy of *Capsicum* science Jacq. and the geographic distribution of the cultivated

Capsicum species. Bull. Torrey Bot. Club. 84: 413.

38. Stepansky, A., I. Kovalski, and R. Perl-Treves. 1999. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotype and molecular variation. Plant Syst. Evol. 217: 313-332.
39. Stiles, J.I., C. Lemme., S. Sondur., M.B. Morshidi, and R. Manshardt. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. Theor. Appl. Genet. 85: 697-701.
40. Tanksley, S. D. 1984. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme-coding genes in pepper, *Capsicum annuum*. Chromosoma 89: 352-360.
41. Yang, X., and C. Quiros. 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 86: 205-212.

Analysis of the Genetic Diversity of *Capsicum* spp. (pepper) Using Random Amplified Polymorphic DNA Analysis [1]

Ming-Jen Fan [2], Jau-Yueh Wang [2], Shuen-Fang Lo [2], Ting Rong Shu [2] and L. M. Engle [3]

Summary

Pepper (*Capsicum* spp.) is one of the most important economical vegetables of Solanaceae family. The genus of *Capsicum* collected in Taiwan mainly includes 8 species. There are *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens*, *C. chaccoense*, *C. praetermissum* and *C. eximium.* In order to identify and analyze the inter-specific and intra-specific genetic distance, a total of 94 lines representing these 8 species were selected for the study. From 580 random primers, 17 polymorphic primers were selected due to stable reproducibility of polymorphic bands. Three hundred and ninety-three effective polymorphic bands were obtained through RAPD analysis, and among them 196 bands could be used for species identification. The Cluster analysis based on Nei and Li's similarity coefficient from these 17 primers was calculated by the UPGMA method. The results showed that *C. eximium* has the smallest mini distance (MD) (0.2783) and *C. annuum* has the largest mini distance (0.6009) within *Capsicum* species. The genetic distance between species was also obtained from aforementioned results. The result of Cluster analysis from RAPD molecular marker is accordant with that based on horticultural characters. The cluster analysis of the 8 species (groups) was based on the frequencies of polymorphic bands appeared in the same "species", and calculated by the average linkage of hierarchical clustering. The result of cluster analysis of 8 groups is also similar to aforementioned results of 94 lines. In brief, the results indicate that RAPD markers are useful in estimating the genetic distances of the species between *Capsicum*, and can be used as the references for germplasm collection and breeding programs.

Key words ： *Capsicum* spp., RAPD, Cluster analysis, Core collection

---

1. Contribution No.2091 From Taiwan Agriculture research Institute, Council of Agriculture.

2. Respectively, Research Fellow and Head, Assistant Agronomist, Engaged Technician, Engaged Technician, Crop Genetic Resources Laboratory, TARI, Wufwng, Taichung, Taiwan ROC.

3. Geneticist and Head, GRSU, Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan, ROC.